Gélose KING B

DOMAINE D'UTILISATION

La gélose King B permet la production de fluorescéine (ou pyoverdine), pigment jaune vert fluorescent sous lumière ultra-violette, par certains *Pseudomonas*. Le milieu est utilisé principalement dans l'analyse de l'eau pour la détection et la différenciation de *Pseudomonas aeruginosa* qui produit ce pigment fluorescent contrairement à certaines espèces de *Pseudomonas* qui n'en produisent pas.

HISTORIQUE

Le milieu a été décrit par King, Ward et Raney en 1954, puis la formule a été modifiée selon les recommandations de la Pharmacopée américaine. Les auteurs ont également mis au point le milieu King A qui favorise la production de pyocyanine (pigment fluorescent bleu) au détriment de la pyoverdine.

PRINCIPES

- La gélose King B favorise la production de pyoverdine et inhibe par ailleurs la production de pyocyanine. La fluorescéine produite par les *Pseudomonas* est un pigment jaune vert fluorescent qui est facilement détecté sur ce milieu.
- Le phosphate dipotassique augmente la concentration en phosphore apporté par la peptone et stimule ainsi la production de fluorescéine, tout en inhibant la production de pyocyanine.
- Le sulfate de magnésium apporte les cations nécessaires à la production de pyoverdine.

PREPARATION

- Faire fondre les tubes de milieu pendant le minimum de temps nécessaire à la reliquéfaction, puis les incliner de manière à obtenir une pente oblique, après refroidissement.

NOTA 1 :

Une liquéfaction partielle de l'agar entraînera inévitablement une altération significative de la consistance du gel du milieu solidifié, après stérilisation et refroidissement.

NOTA 2 :

Il est recommandé, lorsque le milieu n'est pas utilisé dans les 8 jours qui suivent sa préparation, de le reliquéfier au bain-marie bouillant et de le solidifier à nouveau en bonne position.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

MODE D'EMPLOI

- A partir de chaque colonie suspecte prélevée sur le milieu d'isolement sélectif, puis purifiée sur gélose nutritive, ensemencer la surface inclinée de gélose King B par des stries serrées.
- Il est nécessaire d'utiliser des cultures pures prélevées au centre de colonies bien isolées, sinon les réactions croisées rendent l'identification impossible à réaliser.
- Incuber à (36 ± 2)°C pendant 24 heures et jusqu'à 5 jours, capsules desserrées, de manière à favoriser les échanges gazeux.

LECTURE

Les colonies présentant une fluorescence jaune verte détectable sous ultra-violets à 360 nm, sont considérées comme positives, pour le contrôle des eaux, suivant la méthode décrite dans la norme NF EN ISO 16266.

FORMULE - TYPE du milieu complet

(pouvant être ajustée de façon à obtenir des performances optimales)

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone ..... 20,0 g
- Glycérol..... 10,0 mL
- Phosphate dipotassique ..... 1,5 g
- Sulfate de magnésium, 7 H_2O ..... 1,5 g
- Agar agar bactériologique..... 15,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,2 ± 0,2.

CONTRÔLE QUALITE

- Milieu complet : gélose ambrée.
- Réponse culturale typique après 24 heures d'incubation à (36 ± 2)°C (NF EN ISO 16266 ; NF T90-461):

Microorganismes		Croissance	Fluorescence à 360 nm
Pseudomonas aeruginosa	CIP 82.118	positive	positive
Pseudomonas aeruginosa	ATCC® 10145	positive	positive
Pseudomonas aeruginosa	ATCC 27853	positive	positive
Escherichia coli	ATCC 11775	positive	négative
Staphylococcus aureus	CIP 53.154	positive	négative

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

STOCKAGE / CONSERVATION

Milieu complet prêt-à-liquéfier en tubes :
- Stocker entre 2 et 8°C, à l'abri de la lumière.
- La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

PRESENTATION

	Code
Milieu prêt-à-liquéfier complet (avec glycérol) en tubes :	
- Sachet de 7 tubes de 7 mL	BM10508

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

King, E. O., Ward, M. K., and Raney, D .E. 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. J. Lab. Clin. Med. **44**: 301.

United States Pharmacopeia 25. 2002. Microbial Limit Tests, 1874-1878.

NF T 90-461. Juillet 2001 et NF T 90-461/A1. Juin 2005. Qualité de l'eau. Microbiologie. Contrôle qualité des milieux de culture.

NF EN ISO 16266 (T90-419). Août 2008. Qualité de l'eau. Détection et dénombrement de *Pseudomonas aeruginosa*. Méthode par filtration sur membrane.

Les mentions portées sur les étiquettes sont prédominantes sur les formules ou les instructions décrites dans ce document.
Les informations et les spécifications contenues dans cette fiche technique ont été établies à la date du 2011-02-14.
Elles sont susceptibles d'être modifiées à tout moment, sans préavis.
Code document : BK172/F/2003-10 : 7.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr